

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN
PROTECCIÓN VEGETAL

PROSPECCIÓN DE VIRUS ASOCIADOS AL CULTIVO DE PIMENTÓN (*Capsicum
annuum* L.) EN PANAMÁ

ARQUIMEDES JUNIER BARAHONA PIMENTEL

TESIS PRESENTADA COMO UNO DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL
GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN
PROTECCIÓN VEGETAL

PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ

2019

HOJA DE APROBACIÓN

JOSÉ ÁNGEL HERRERA VÁSQUEZ, Ph.D.

_____DIRECTOR

OLEHG ISAAC AGUILAR ROJAS, Ph.D.

_____ASESOR

CARLOS ANTONIO LÓPEZ ORTEGA, M.Sc.

_____ASESOR

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la vida, el bienestar y la oportunidad de esta hermosa experiencia de trabajo en equipo, que me da la motivación y fortaleza para continuar en este maravilloso mundo de la ciencia.

Un agradecimiento muy especial a mi familia por el respaldo incondicional y quienes en momentos difíciles fueron esa voz de aliento que me impulsó a continuar.

Al Ministerio de Desarrollo Agropecuario (MIDA), por la importante colaboración, al permitirme utilizar el laboratorio, reactivos y equipos de la Dirección Nacional de Sanidad Vegetal (DNSV).

A la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT), que mediante el Sistema Nacional de Investigación (SNI) colaboró económicamente para el desarrollo de esta investigación.

A los compañeros de trabajo de la DNSV, a los coordinadores regionales y a los técnicos extensionistas de las agencias visitadas, por la colaboración y el tiempo brindado, así como también a los productores de pimentón que gentilmente facilitaron sus campos de producción para la toma de muestras en esta investigación.

A los asesores de tesis, Dr. José Ángel Herrera Vásquez, Dr. Olehg Isaac Aguilar Rojas y M.Sc. Carlos Antonio López Ortega, quienes desde ámbitos diferentes, pero muy complementarios, han dedicado su valioso tiempo para orientar y aportar en el desarrollo de este trabajo.

A los compañeros de clase por siempre mostrarse interesados y anuentes en el desarrollo de este estudio, quienes con sus consejos y experiencia aportaron mucho a este trabajo de investigación.

ÍNDICE

Índice de tablas	v
Índice de figuras.....	vi
Resumen.....	1
Summary	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1 EL CULTIVO DE PIMENTÓN	6
2.1.1 Orígenes y generalidades	6
2.1.2 Descripción biológica, taxonomía y usos	7
2.1.3 Importancia Económica	7
2.2 Infecciones virales en el cultivo de pimentón en panamá	8
2.3 Descripción de los virus en estudio.....	9
2.4 Diagnóstico de enfermedades virales en plantas	13
3. MATERIALES Y MÉTODOS	14
3.1 Ubicación del estudio	14
3.2 Prospecciones	14
3.3 Criterios para la realización de las prospecciones.....	16
3.4 Análisis de muestras	19
4. RESULTADOS	22
4.1 Incidencia de virus en muestras y parcelas	22
4.2 Infecciones simples y mixtas.....	25
4.3 Sintomatología en el cultivo de pimentón asociada a infecciones virales	27
5. DISCUSIÓN.....	34
6. CONCLUSIONES	39
7. RECOMENDACIONES	40
8. BIBLIOGRAFÍA.....	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción general de los virus incluidos en este estudio.....	11
Tabla 2. Información general de las parcelas seleccionadas en el estudio.....	17
Tabla 3. Incidencia de virus en muestras (A) y parcelas prospectadas (B), y probabilidad de la prueba de χ^2 para la igualdad de proporciones entre provincias de Panamá.	23
Tabla 4. Incidencia de virus detectados en las parcelas prospectadas.	24
Tabla 5. Infecciones simples y mixtas de virus, detectados en muestras recolectadas en parcelas establecidas con semilla del productor y comercial, en cuatro provincias de Panamá (Chiriquí, Los Santos, Herrera y Panamá).	26
Tabla 6. Absorbancias de los resultados obtenidos mediante ELISA, para cada virus detectado.	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Superficie y producción de pimentón por provincias en 2018. Fuente: MIDA, 2018.....	4
Figura 2. Producción (A) y superficie (B) de pimentón por continentes en 2017. Fuente: FAO, 2019.....	8
Figura 3. Hojas frescas de pimentón (A) y hojas deshidratadas en envases conteniendo gel de sílice (B).	15
Figura 4. Distribución geográfica de las parcelas muestreadas en el estudio.....	16
Figura 5. Muestreo en parcela de pimentón a campo abierto, localizada en Los Gatos, La Espigadilla, Los Santos.	19
Figura 6. Muestreo en parcela de pimentón en casa de cultivo, localizada en Potrerillo Arriba, Dolega, Chiriquí.	19
Figura 7. Balanza analítica (A), homogenizador semiautomático (B), muestra macerada (C) y lector de placas de ELISA (D).....	21
Figura 8. Síntomas asociados a CMV en pimentón: reducción de tamaño de la planta (A), mosaicos suaves en hojas (B), deformación y manchas en frutos (C).	28
Figura 9. Síntomas de bandeado de venas y mosaico suave en hojas en infección por PMMoV (A), y síntomas de clorosis y manchas necróticas en hojas en infección por PVX (B).	28
Figura 10. Enrollamiento hacia arriba de hojas infectadas por ToMV+TMV (A), bandeado de venas y burbujas en infección por TMV+PMMoV (B).	29
Figura 11. Reducción de tamaño de frutos y de planta infectada por TMGMV+PMMoV.	29
Figura 12. Enrollamiento de hojas causado por CMV+PVX (A) y bandeado de venas causado por CMV+PVY (B).....	30
Figura 13. Síntoma de distorsión de hojas causado por CMV+TEV.....	30
Figura 14. Mosaico y lesiones necróticas en hojas producidos por CMV+PVX+PVY. .	31
Figura 15. Distorsión y anillos cloróticos en hojas causados por CMV+TEV+PMMoV.	31

Figura 16. Mosaico verde-amarillo en hojas (A) y deformación de frutos infectados por CMV+TMV+PMMoV (B).....	31
Figura 17. Deformación y manchas necróticas en frutos (A) y venas amarillas en hojas infectadas por CMV+PVX+PVY+PMMoV (B).....	32
Figura 18. Mosaicos y pústulas en hojas infectadas por CMV+TMV+TMGMV+PMMoV.	32
A Figura 19. Mosaico verde-amarillo, burbujas y rizado en hojas infectadas por CMV+PVY+PVX+TEV+PMMoV.	33

RESUMEN

Se realizaron prospecciones en el cultivo de pimentón en las provincias de Chiriquí, Los Santos, Herrera y Panamá, con el objetivo de determinar la incidencia y distribución geográfica de 13 virus reportados como importantes en esta hortaliza, durante el periodo 2015-2016. Se recolectaron 214 muestras de hojas en plantas que mostraban síntomas asociados a enfermedades causadas por virus, en 32 localidades que constituyen las principales regiones productoras de pimentón en las provincias indicadas anteriormente. El análisis de las muestras se realizó con la ayuda de la técnica serológica DAS-ELISA, utilizando anticuerpos policlonales específicos para cada virus. Cincuenta y dos muestras de pimentón (24.3% del total de muestras recolectadas) resultaron positivas al menos a un virus. Se determinó la presencia del virus del mosaico del pepino (CMV), virus del moteado suave del pimiento (PMMoV), virus X de la papa (PVX), virus del mosaico del tabaco (TMV), virus Y de la papa (PVY), virus del mosaico verde suave del tabaco (TMGMV), virus del grabado del tabaco (TEV) y del virus del mosaico del tomate (ToMV). Se discutió la incidencia y distribución geográfica de estos virus en el cultivo de pimentón en Panamá, lo que podría servir de referencia para establecer estrategias dirigidas a la prevención y control de estos patógenos. El presente estudio constituye el primer reporte de la incidencia y distribución geográfica de ocho virus en el cultivo de pimentón y el primer reporte de TMV y ToMV asociados a este cultivo en Panamá.

SUMMARY

Surveys were conducted on pepper crops from the provinces of Chiriquí, Los Santos, Herrera and Panama, with the objective of determining the incidence and geographical distribution of 13 viruses reported as important for this crop, during the period of 2015-2016. 214 leaf samples were collected in plants that showed symptoms associated with diseases caused by viruses, in 32 localities, which constitute the main producing areas of pepper in these provinces. The analysis of the samples was performed using the serological technique (DAS-ELISA), with specific polyclonal antibodies for each virus. Fifty-two (52) pepper samples (24.3% of the total samples collected) tested positive for at least one virus. The presence of *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Pepper mild mottle virus* (PMMoV), *Potato virus X* (PVX), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Potato virus Y* (PVY), *Tobacco mild green mosaic virus* (TMGMV), *Tobacco etch virus* (TEV) and *Tomato mosaic virus* (TMV), were determined. The incidence and geographical distribution of these viruses in pepper crops in Panama was discussed, which could serve as a reference to establish strategies aimed at the prevention and control of these pathogens. The present study constitutes the first report of the incidence and geographic distribution of eight (8) viruses in the pepper crop and the first to report to TMV and ToMV associated with this crops in Panama.

1. INTRODUCCIÓN

El pimentón (*Capsicum annuum* L.) representa un rubro importante en el sector agrícola en Panamá, ya que se cultiva durante todo el año y forma parte de las hortalizas que presentan mayor demanda a nivel nacional. La producción de pimentón en este país ha tenido una tendencia alcista, aumentando de 2.600 t en 2000 a 4.000 t en 2017, incrementándose en un 35% entre un año y otro. Asimismo, la superficie destinada a su cultivo aumentó de 163 ha en 2000 a 223 ha en 2017, incrementándose en un 26.9% en este mismo periodo (MIDA, 2018). La producción y la superficie de esta hortaliza han aumentado considerablemente, debido probablemente a que algunos productores han adoptado prácticas de manejo eficientes, entre estas, el uso de casas de cultivo, variedades con mayor rendimiento, así como la utilización de sistemas de riego y nutrición eficientes [Ing. Jorge Barría, extensionista del Ministerio de Desarrollo Agropecuario (MIDA), comunicación personal].

La provincia de Chiriquí, en la región occidental de Panamá, es la principal productora de pimentón, ocupando el 59% (2,362.8 t) de la producción nacional, mientras que la superficie destinada a su cultivo representó el 59.1% (132 ha) en 2017. En orden de importancia en cuanto a producción y superficie le siguen las provincias de Los Santos, Herrera, Panamá, Coclé y Veraguas (Figura 1) (MIDA, 2018).

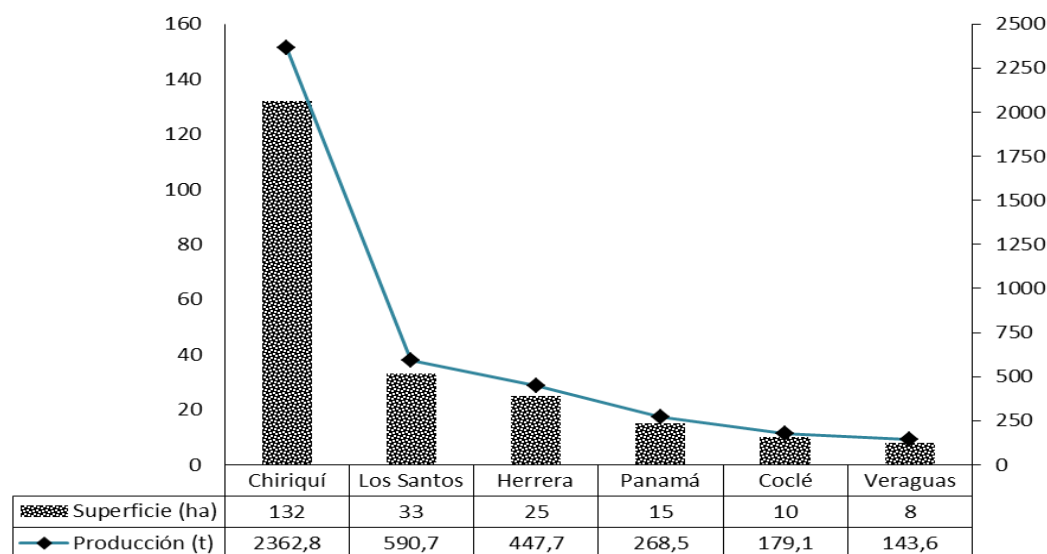


Figura 1. Superficie y producción de pimentón por provincias en 2018. Fuente: MIDA, 2018.

A pesar del incremento en la producción de pimentón en Panamá, en los ciclos agrícolas 2012-2013 y 2014-2015, este cultivo se vio afectado por diversos patógenos, siendo en ocasiones la sintomatología observada similar a la causada por virus, por ejemplo, mosaico verde-amarillo, deformación de hojas y frutos, manchas angulares, necrosis foliares, entre otros (Ing. Carlos López, Coordinador Nacional de Plagas Específicas del MIDA, comunicación personal).

Las enfermedades virales constituyen el principal factor limitante en el cultivo de pimentón en todo el mundo (Martelli y Quacquarelli, 1983; Florini y Zitter, 1987; Yoon *et al.*, 1989;). En este sentido, Hanssen *et al.* (2010) reportan cuarenta y nueve (49) especies de virus en el cultivo de esta hortaliza a nivel mundial.

En México, considerado el segundo país con mayor producción de pimentón en el mundo (FAO, 2019), se han reportado al menos veinte (20) especies de virus asociados a enfermedades en este cultivo (Landa-Cadena, 2012).

En Panamá, Fernández (1986) reportó la presencia en la provincia de Los Santos del virus del grabado del tabaco (*Tobacco etch virus*, TEV) y del virus Y de la papa (*Potato virus*

Y, PVY), ambos pertenecientes al género *Potyvirus* dentro de la familia *Potyviridae*, Posteriormente, en 2008, se realizó una prospección en las provincias de Coclé, Herrera y Veraguas, donde se reportó la presencia de PVY y tres nuevos virus afectando al cultivo de pimentón, siendo estos, el virus del moteado suave del pimentón (*Pepper mild mottle virus*, PMMoV) y el virus del mosaico verde suave del tabaco (*Tobacco mild green mosaic virus*, TMGMV), ambos pertenecientes al género *Tobamovirus* dentro de familia *Virgaviridae*, y el virus del mosaico del pepino (*Cucumber mosaic virus*, CMV), perteneciente al género *Cucumovirus* dentro de la familia *Bromoviridae*. Estos virus se detectaron en infecciones simples y mixtas en las plantas afectadas, resultando la producción de esta hortaliza seriamente afectada (Herrera-Vásquez *et al.*, 2008). En este estudio, PMMoV y TMGMV, se reportaron por primera vez en Panamá y, ambos virus, han causados serios problemas en la producción de pimentón en los países donde ha sido citada su presencia. Uno de los grupos de virus de mayor importancia lo constituyen los *Tobamovirus*, ya que al menos seis especies de este género se encuentran citadas como las causantes de enfermedades severas en esta hortaliza (Brunt *et al.*, 1996). Las enfermedades causadas por virus pueden ocasionar una reducción de incluso el 80% en la producción en el cultivo de pimentón (Robles *et al.*, 2010).

Los virus que afectan al cultivo de pimentón reducen la producción y afectan la calidad de los frutos, ya que producen cambios anormales de color, forma y tamaño, como se indicó anteriormente. En este sentido, estos agentes representan un alto riesgo para la producción de esta hortaliza en Panamá. Considerando lo anterior y tomando en cuenta que una buena identificación del agente viral es fundamental para establecer adecuadas estrategias de manejo, este estudio se enfocó en realizar prospecciones en todas las regiones de Panamá donde mayormente se cultiva pimentón a campo abierto y en casa de cultivo, con el objetivo de determinar la incidencia y distribución de trece (13) virus de importancia, en el cultivo de pimentón en este país.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 EL CULTIVO DE PIMENTÓN

2.1.1 Orígenes y generalidades

El género *Capsicum* fue descrito por Carlos Linneo en su obra *Species Plantarum* publicada en 1753. Según Salazar y Silva (2004) el nombre asignado por Linneo deriva del griego *kapto*, que significa “picar”, siendo esta su principal característica; sin embargo, López-Riquelme (2003) indica el nombre “caja”, en alusión a que las semillas están encapsuladas en una especie de caja, aunque de acuerdo a su tipo, el fruto es clasificado como una baya. El origen del pimentón no está claramente establecido, ya que todas las especies del género, excepto la silvestre *Capsicum anomalum*, de origen euroasiático, son originarias de América, y constituyen uno de los primeros grupos de plantas domesticadas por el hombre, encontrándose restos de *Capsicum* en las cuevas de Guitarrero y Pachamamay en Perú, datados entre 8000 y 8600 a.C., y en el valle del Tehuacán en México, datados entre 5500 y 6500 a.C. (Nuez *et al.*, 1996). McLeod *et al.* (1982) sugieren que el género *Capsicum* se originó en Bolivia, específicamente en la región sur-central, desde donde emigró a los Andes y a la Amazonia y, que en esta primera emigración, fueron definiéndose diversas especies, fruto de la adaptación a hábitats distintos.

El pimentón ha experimentado a partir del siglo XV un desarrollo extraordinario en todo el mundo, desde que Cristóbal Colón en su recorrido por América lo llevara a España en 1493, extendiéndose desde allí a otros países de Europa, Asia y África, a lo largo del siglo XVI (Bartolomé-García *et al.*, 2015). Desde entonces, ha logrado seguir su expansión a nuevas áreas, hecho que se fundamenta en un crecimiento continuo de las superficies cultivadas, y sobre todo, en la mejora general del cultivo y de las variedades que hoy se cultivan.

2.1.2 Descripción biológica, taxonomía y usos

El pimentón pertenece a la familia *Solanaceae*, la cual es de gran importancia económica por incluir cultivos de interés agrícola, como la papa (*Solanum tuberosum* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y el tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) (López-Riquelme, 2003). Dentro de esta familia de plantas, se encuentran más de treinta especies del género *Capsicum* denominadas conjuntamente con el nombre de pimentones, ajíes o chiles. De estas especies, sólo cinco han sido domesticadas y cultivadas por el hombre (IBPGR, 1983), tal y como se indica a continuación: *C. annuum*, especie que pertenecen la mayoría de las variedades de pimentones dulces, agridulces y algunos picantes cultivados en el mundo, particularmente en Europa y América del Norte; *Capsicum frutescens*, especie que comprende la mayoría de las variedades picantes cultivadas en América y Asia y, en menor medida, en Europa; y *Capsicum chinense*, *Capsicum baccatum* y *Capsicum pubescens*, especies cultivadas casi exclusivamente en México (*C. chinense*) y en Los Andes (*C. baccatum* y *C. pubescens*) (Bartolomé-García *et al.*, 2015). La utilización del pimentón se ha ido diversificando con el paso del tiempo, siendo en un principio utilizado por los indígenas de América, principalmente como colorante para las comidas. Actualmente, se consume el fruto fresco en ensaladas, como condimento para la elaboración de las comidas y en la preparación de conservas.

2.1.3 Importancia Económica

La producción de pimentón a nivel mundial ha seguido una tendencia alcista, aumentando de 20.874.506 t en 2000 a 36.112.895 t en 2017, incrementándose en un 73% entre un año y otro. La superficie destinada a su cultivo también ha aumentado de 1.616.288 ha en 2000 a 1.987.059 ha en 2017, incrementándose en un 23% en el mismo periodo (FAO, 2019).

El mayor productor de pimentón en el mundo es China, mientras que Turquía e Indonesia destacan también en este aspecto en el continente asiático, ocupando dicho continente el 66% y 67% de la producción y superficie de pimentón a nivel mundial en 2017,

respectivamente (Fig. 2A, B) (FAO, 2019). En cuanto a producción de pimentón, le siguen en importancia al continente asiático, África, América y Europa (Fig. 2A), mientras que en superficie, le siguen en importancia América, África y Europa (Fig. 2B)

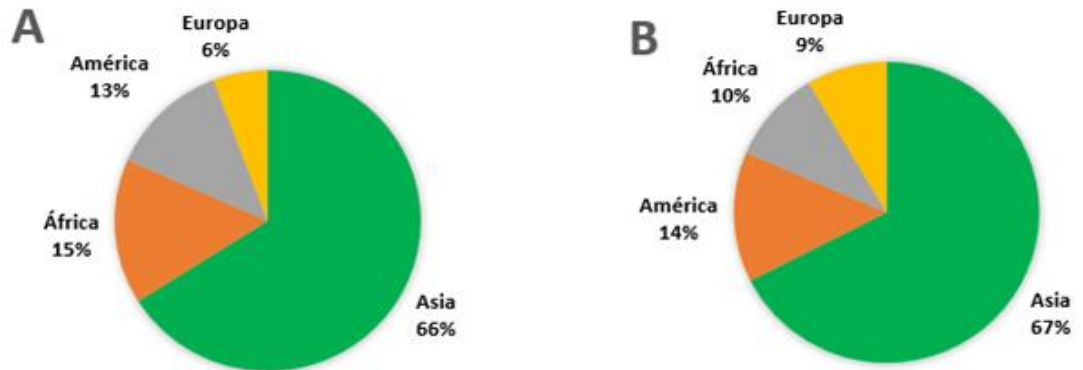


Figura 2. Producción (A) y superficie (B) de pimentón por continentes en 2017. Fuente: FAO, 2019.

2.2 INFECCIONES VIRALES EN EL CULTIVO DE PIMENTÓN EN PANAMÁ

Los virus son parásitos obligados intracelulares y submicroscópicos. Presentan una o más moléculas de ácido nucleico, normalmente encapsidado en una proteína de cubierta, cuyos genomas se replican en las células del hospedante utilizando la maquinaria metabólica de éste para formar un conjunto de componentes que se ensamblan para producir partículas llamadas viriones. Estos agentes constituyen el grupo de patógenos más importantes y destructivos que afectan a las plantas (Agrios, 2005).

El pimentón ha sido una de las hortalizas que ha sufrido implacablemente la incidencia de enfermedades de etiología viral. En este cultivo, los virus se pueden encontrar provocando infecciones de forma individual o mixta, causando una sintomatología variable (Font y Jordá, 2001).

El número de especies de virus que infectan al cultivo de pimentón, así como su incidencia en dicho cultivo, ha aumentado considerablemente en los últimos 30 años,

particularmente en sistemas de producción de pimentones tropicales y subtropicales. En términos generales, las emergencias virales, es decir, los brotes de nuevas entidades de virus o el aumento de la prevalencia o los daños inducidos por virus conocidos, se ven favorecidos por varios factores frecuentemente relacionados con la intensificación de las prácticas agrícolas o del comercio internacional. Con el aumento de las incidencias de distintas especies de virus, aumenta también la incidencia de la coinfección de dos o más especies de agentes virales en la misma planta. Por lo tanto, existen mayores posibilidades de interacciones sinérgicas entre especies de virus, aumentando la severidad de los síntomas y debilitando la resistencia del hospedante, así como la oportunidad de recombinación genética e intercambio de componentes y un posible aumento en la severidad, virulencia y transmisibilidad (Kenyon *et al.*, 2014).

En Panamá, el Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP) ha realizado investigaciones para la selección de progenitores y líneas de *Capsicum* sp., resistentes a TEV y PVY, los cuales eran los virus predominantes en la zonas bajas del país, específicamente en la provincia de Los Santos (Fernández, 1986). En prospecciones realizadas en los años 2000, Herrera-Vásquez *et al.* (2008) reportaron la presencia de PVY y tres virus adicionales afectando al cultivo de pimentón en Panamá, como se indicó anteriormente, siendo estos, PMMoV, TMGMV y CMV.

2.3 DESCRIPCIÓN DE LOS VIRUS EN ESTUDIO

En un mundo globalizado donde el comercio de productos de origen vegetal se ha incrementado a nivel mundial, y donde existe un constante incremento de la densidad poblacional, así como frecuentes cambios climáticos asociados al calentamiento global, es primordial monitorear la presencia de nuevas o recurrentes amenazas que puedan afectar al sector agrícola del país. Por lo tanto, resulta necesario reforzar los sistemas de vigilancia y control fitosanitario.

En este sentido, en el presente estudio se incluyeron los virus reportados previamente en el cultivo de pimentón en Panamá, virus reportados en otros cultivos como tomate y papa

en este país, pero que están citados como importantes en el cultivo de pimentón en otros países, y virus de interés cuarentenario para Panamá, ya que una posible introducción al país, podría comprometer al cultivo de pimentón y a otros cultivos hospedantes de importancia económica. En la Tabla 1 que se presenta a continuación se recogen estos virus, así como su familia, género, transmisión y la sintomatología que causan en pimentón.

Tabla 1. Descripción general de los virus incluidos en este estudio.

Nombre en inglés	Nombre en español	Familia	Género	Transmisión	Sintomatología
<i>Alfalfa mosaic virus</i> (AMV) ^{a-b}	Virus del mosaico de la alfalfa	<i>Bromoviridae</i>	<i>Alfamovirus</i>	Semilla, áfidos (no persistente)	Mosaico amarillo intenso, clorosis, deformación de frutos
<i>Broad bean wilt virus</i> (BBWV) ^b	Virus del marchitamiento de la haba	<i>Comoviridae</i>	<i>Fabavirus</i>	Áfidos (no persistente)	Mosaico, moteado, malformación de hojas
<i>Cucumber mosaic virus</i> (CMV) ^c	Virus del mosaico del pepino	<i>Bromoviridae</i>	<i>Cucumovirus</i>	Semillas, áfidos (no persistente)	Mosaico, necrosis de hojas, enanismo
<i>Paprika mild mottle virus</i> (PaMMV) ^b	Virus del moteado suave de la paprika	<i>Virgaviridae</i>	<i>Tobamovirus</i>	Semilla, mecánica	Mosaico, moteado, manchas necróticas en hojas
<i>Pepper mild mottle virus</i> (PMMoV) ^c	Virus del moteado suave del pimentón	<i>Virgaviridae</i>	<i>Tobamovirus</i>	Semilla, mecánica	Clorosis leves, reducción de tamaño de hojas, deformación de frutos
<i>Pepper mottle virus</i> (PepMoV) ^b	Virus del moteado del pimentón	<i>Potyviridae</i>	<i>Potyvirus</i>	Áfidos (no persistente)	Deformación de hojas y frutos, enanismo
<i>Potato virus X</i> (PVX) ^c	Virus X de la papa	<i>Alphaflexiviridae</i>	<i>Potexvirus</i>	Mecánica	Manchas en hojas, defoliación, necrosis en tallos
<i>Potato virus Y</i> (PVY) ^c	Virus Y de la papa	<i>Potyviridae</i>	<i>Potyvirus</i>	Áfidos (no persistente)	Rizado de hojas apicales, aclaramiento y bandeado de venas
<i>Tobacco etch virus</i> (TEV) ^c	Virus del grabado del tabaco	<i>Potyviridae</i>	<i>Potyvirus</i>	Áfidos (no persistente)	Manchas cloróticas, bandas anchas de color verde, distorsión de hojas
<i>Tobacco mild green mosaic virus</i> (TMGMV) ^c	Virus del mosaico verde suave del tabaco	<i>Virgaviridae</i>	<i>Tobamovirus</i>	Semilla, mecánica	Mosaico, reducción de tamaño de frutos, parches necróticos en frutos y hojas

Tabla 1. Continuación...

Nombre en inglés	Nombre en español	Familia	Género	Transmisión	Sintomatología
<i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV) ^a	Virus del mosaico del tabaco	<i>Virgaviridae</i>	<i>Tobamovirus</i>	Semilla, mecánica	Mosaico clorótico, distorsión de hojas, necrosis sistémica
<i>Tomato mosaic virus</i> (ToMV) ^a	Virus del mosaico del tomate	<i>Virgaviridae</i>	<i>Tobamovirus</i>	Semilla	Mosaico, senescencia y encrespamiento de hojas
<i>Tomato spotted wilt virus</i> (TSWV) ^b	Virus del bronceado del tomate	<i>Bunyaviridae</i>	<i>Ortho tospovirus</i>	Trips (persistente)	Anillos cloróticos, manchas cloróticas en frutos, maduración irregular

Fuente: Adaptado de Font y Jordá (2001), ICTV (2019).

^aVirus reportados en otros cultivos de interés agrícola en Panamá, pero no en pimentón (DNSV-MIDA, datos no publicados).

^bVirus considerados de interés cuarentenario para Panamá, por la Dirección Nacional de Sanidad Vegetal (DNSV) del Ministerio de Desarrollo Agropecuario (MIDA).

^cVirus reportados en pimentón en Panamá (Fernández, 1986, Herrera-Vásquez *et al.*, 2008).

2.4 DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES VIRALES EN PLANTAS

El proceso de identificar correctamente la causa de una enfermedad es indispensable para dirigir adecuadamente las prácticas de manejo (Gergerich *et al.*, 2006). En Virología, los métodos de detección son herramientas fundamentales, porque de ellos depende la exactitud de las investigaciones (González-Garza, 2017).

Lo síntomas de enfermedades causadas por virus pueden ser similares a los síntomas causados por deficiencias nutricionales. Además, un mismo virus puede ocasionar síntomas diferentes y, a la vez, diferentes virus pueden producir síntomas similares, situaciones estas que ocasionaron en el pasado diagnósticos erróneos en los diferentes estudios realizados correspondientes a estos agentes infecciosos (Pérez-Moreno *et al.*, 2004). Por lo tanto, resulta necesario realizar una correcta identificación del agente viral, mediante el uso de métodos convenientes, efectivos, específicos y rápidos (Joo-Jin *et al.*, 2014).

Las técnicas que presentan mayor eficiencia y confiabilidad para el diagnóstico de virus que infectan plantas son las serológicas, como el Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA, del inglés Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), y las moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés Polymerase Chain Reaction), la cual presenta una alta sensibilidad (Hull, 2014).

En relación a la técnica ELISA, Clark y Adams (1977) indicaron que esta técnica podría ser efectiva en la detección de virus vegetales. Por lo tanto, esta prueba se ha convertido en una valiosa herramienta en la detección de estos patógenos, debido a que su sensibilidad permite detectar concentraciones bajas del agente viral y, además, permite el análisis de un elevado número de muestras en periodos cortos de tiempos; en adición, su costo resulta más económico en comparación a las técnicas moleculares (González-Garza, 2017).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN DEL ESTUDIO

El presente estudio se realizó en las provincias de Chiriquí y Los Santos, localizadas en la región occidental y central de Panamá, respectivamente. Estas regiones concentran el 91.3% de la producción de pimentón en este país. De igual forma, se incluyó a la provincia de Herrera, por su cercanía a la provincia de Los Santos y, además, por presentar condiciones similares a dicha provincia (precipitación, temperatura y sistemas de producción a campo abierto). Adicionalmente, se incluyó a la provincia de Panamá, específicamente el área oriental, que a pesar de presentar una superficie cultivada de pimentón limitada, constituye una región favorecida por la disponibilidad de tierra que presentan los productores, mano de obra y accesibilidad a mercados, por lo cual, se está convirtiendo en una zona importante para la producción de alimentos, incluyendo las hortalizas.

El análisis serológico de las muestras se realizó en el Departamento de Coordinación de Servicios Técnicos de Detección y Diagnóstico Fitosanitario (DCSTDDF) de la DNSV del MIDA, localizado en Rio Tapia, Tocumen, Panamá.

3.2 PROSPECCIONES

Se realizaron prospecciones en parcelas de pimentón, fundamentalmente dirigidas a plantas mostrando síntomas asociados a enfermedades causadas por virus, entre estos, mosaico, manchas anilladas, clorosis, necrosis de hojas, deformación de frutos y enanismo de las plantas, con la finalidad de tener mayor probabilidad de detectar posibles agentes virales infecciosos. Se muestrearon parcelas en etapa de desarrollo vegetativo, floración y fructificación. Las plantaciones en etapa final de producción no fueron consideradas en los muestreos, ya que los síntomas podrían confundirse con la senescencia natural del cultivo. Se muestrearon 16 parcelas a campo abierto e igual

número de parcelas en casa de cultivo, haciendo un total de 32 parcelas en ambos sistemas de producción, en las provincias de Chiriquí, Los Santos, Herrera y Panamá, consideradas las principales regiones del cultivo de esta hortaliza en Panamá (Tabla 2).

Cada muestra estuvo compuesta de 10 hojas jóvenes recolectadas de una misma planta. Durante el recorrido en campo, las muestras fueron depositadas en bolsas plásticas (Fig. 3A), debidamente rotuladas y guardadas en una nevera portátil para protegerlas de la luz solar, utilizando gel frío para mantenerlas frescas. Seguidamente, las hojas fueron cortadas en pedazos pequeños para reducir la oxidación del tejido y colocadas en envases plásticos de 50 ml con sello hermético que contenían gel de sílice (Fig. 3B), que resulta muy efectivo para deshidratar y conservar muestras de tejido vegetal, en una proporción 10:1 (gel de sílice: tejido vegetal) (Chase y Hills, 1991). El gel de sílice contenía un indicador de color (cloruro de cobalto), que cambia de color al irse impregnando de humedad, lo que permitió determinar oportunamente cuando se requería realizar su recambio, con la finalidad de mantener las muestras deshidratadas y libres de humedad. Las muestras se conservaron a temperatura ambiente hasta el momento de su análisis.



Figura 3. Hojas frescas de pimentón (A) y hojas deshidratadas en envases conteniendo gel de sílice (B).

Las parcelas muestreadas fueron georreferenciadas utilizando un Sistema de Posicionamiento Global (GPS) portátil Garmin eTrex® 30 (Kansas, Estados Unidos). Se obtuvieron datos de latitud, longitud y altitud, los cuales fueron analizados y mapeados con el programa ArcGIS® (California, Estados Unidos) (Fig. 4). Se registraron datos en

cada parcela sobre el cultivar de pimentón, el sistema de producción (campo abierto o casa de cultivo) y el origen de la semilla (seleccionada por el productor o semilla comercial) (Tabla 2).

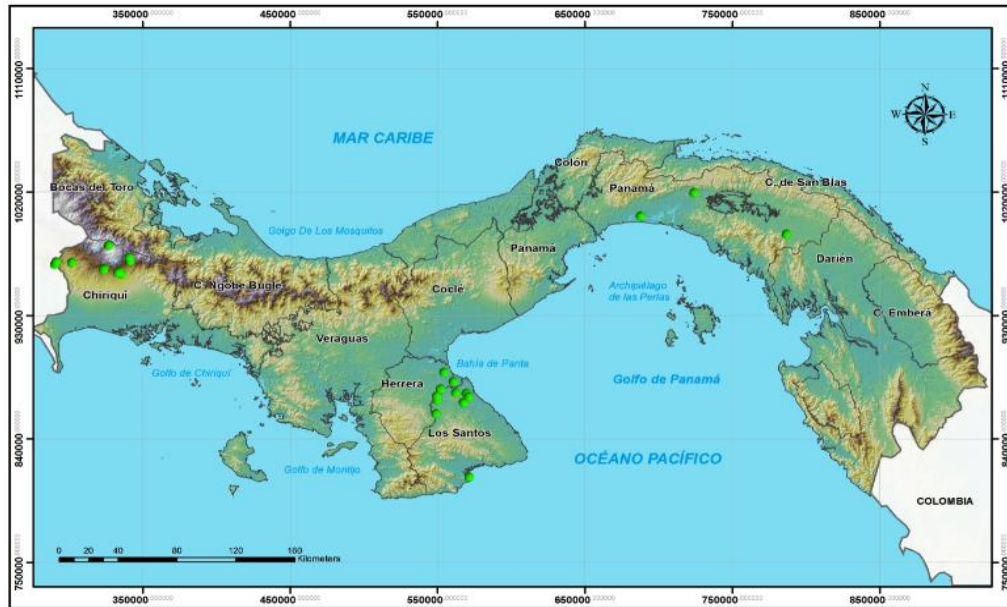


Figura 4. Distribución geográfica de las parcelas muestreadas en el estudio.

3.3 CRITERIOS PARA LA REALIZACIÓN DE LAS PROSPECCIONES

Para la selección de las localidades y para definir el número de muestras a recolectar, con la finalidad de mantener una representatividad de las áreas de producción del cultivo de pimentón, se utilizaron los siguientes criterios:

- Parcelas iguales o mayores a 0.5 ha.
- Máximo dos parcelas por localidad.
- Máximo tres parcelas por agencia del MIDA.
- Parcelas de 0.5 hasta 1 ha = 5 muestras.
- Parcelas de 1 hasta 5 ha = 10 muestras.
- Parcelas de 5 hasta 10 ha = 15 muestras

Tabla 2. Información generales de las parcelas prospectadas en el estudio

Localización geográfica			Sistema de posicionamiento global				
Periodo de cultivo	Provincia	Distrito, corregimiento, localidad	Sistema de coordenadas universal transversal de Mercator (X, Y); Altitud ^a	Nº de parcela	Sistema de producción ^b	Origen de la semilla ^c	Cultivar
2015 - 2016	Los Santos	Los Santos, Agua Buena, –	567374, 866560; 72	1	CA	SP	Criollo
		Los Santos, Sábana Grande, Las Jaguas	548989, 858392; 20	2	CA	SC	149M
		Los Santos, La Espigadilla, Los Gatos	569403, 873143; 28	3	CA	SP	Cacho chivo
		Los Santos, Los Ángeles, –	570975, 870923; 38	4	CA	SP	Nathalie
		Los Santos, Llano Largo, Jobo Dulce	562188, 873619; 71	5	CA	SP	Criollo
		Macaracas, Chupá, Chupaito	548986, 858391; 91	6	CA	SP	Cacho chivo
		Tonosí, Tonosí, Búcaro	571354, 812329; 3	7	CA	SP	Criollo
	Panamá	Tonosí, Tonosí, Búcaro	571348, 812328; 7	8	CA	SP	Tres esquinas
		Chepo, Tortí, Tortí Abajo	786701, 989254; 102	9	CA	SP	Tres esquinas
		Chepo, El Llano, –	724002, 1019274; 39	10	CA	SP	Criollo
		Panamá, San Martín, Sacramento	687643, 1002278; 15	11	CA	SP	Criollo
	Herrera	Pesé, Las Cabras, El Ciruelo	549646, 868362; 39	12	CA	SP	Tres esquinas
		Pesé, Las Cabras, –	549321, 871488; 23	13	CA	SP	Tres esquinas
		Pesé, El Barrero, –	551973, 876457; 57	14	CA	SC	Híbrido 4212
		Chitré, La Arena, Los Chicharrones	560743, 881863; 37	15	CA	SC	Híbrido 4212
	Chiriquí	Parita, Parita, Los Grullos	554332, 888584; 24	16	CA	SP	Cacho chivo
		Renacimiento, Cañas Gordas, Pueblo Nuevo	291348, 967898; 1081	17	CC	SC	Fabuloso

Tabla 2. Continuación...

Localización geográfica			Sistema de Posicionamiento global				
Periodo de cultivo	Provincia	Distrito, corregimiento, localidad	Sistema de coordenadas universal transversal de Mercator (X, Y); Altitud ^a	Nº de parcela	Sistema de producción ^b	Origen de la semilla ^c	Cultivar
	Chiriquí	Renacimiento, Cañas Gordas, –	289824, 967087; 1152	18	CC	SC	Zapata
		Renacimiento, Cañas Gordas, –	290204, 967030; 1135	19	CC	SC	Fabuloso
		Bugaba, Cerro Punta, Entre Ríos	326827, 980980; 1879	20	CC	SC	Lido-42
		Boquerón, Cordillera, Cordillera Centro	323655, 964335; 1201	21	CC	SC	Nathalie
		Boquerón, Cordillera, Cordillera Abajo	323286, 963326; 1114	22	CC	SC	Lido-42
		Boquete, Boquete, Volcancito	341265, 969675; 1262	23	CC	SC	Rodrigo rojo
		Boquete, Boquete, Volcancito	341222, 969684; 1260	24	CC	SC	Polaris
		Boquete, Boquete, El Salto	340794, 972094; 1318	25	CC	SC	Laritta
		Dolega, Potrerillo, –	335994, 959710; 874	26	CC	SC	Wonder
		Dolega, Potrerillo, –	334184, 961800; 1052	27	CC	SC	Rodrigo rojo
		Dolega, Potrerillo, Potrerillo Arriba	333053, 961134; 1048	28	CC	SC	Sympathy
		Dolega, Potrerillo, Potrerillo Arriba	333053, 961134; 1048	29	CC	SC	Zidenka
		Alanje, Guarumal, Guásimo	326887, 923661; 32	30	CC	SC	Nathalie
		Renacimiento, Plaza de Caisán, Caisán	301904, 968561; 1099	31	CC	SC	Nathalie
		Renacimiento, Río Sereno, Copal	291192, 969178; 1066	32	CC	SC	Nathalie

^aLa altitud corresponde a metros sobre el nivel del mar (MSNM).

^bCA = campo abierto; CC = casa de cultivo.

^cSP = semilla del productor; SC = semilla comercial.



Figura 5. Muestreo en parcela de pimentón a campo abierto, localizada en Los Gatos, La Espigadilla, Los Santos.



Figura 6. Muestreo en parcela de pimentón en casa de cultivo, localizada en Potrerillo Arriba, Dolega, Chiriquí.

3.4 ANÁLISIS DE MUESTRAS

Las muestras de pimentón recolectadas se conservaron en gel de sílice a temperatura entre 18 – 27°C, en envases sellados herméticamente hasta el momento del análisis, como se indicó anteriormente. El análisis de las muestras se llevó a cabo mediante la técnica de DAS-ELISA, utilizando anticuerpos policlonales específicos para la detección de los 13 virus descritos en la Tabla 1, siendo estos, AMV, CMV, BBWV, PVX, PVY, TEV, PepMoV, PMMoV, TMV, ToMV, TSWV, de la casa comercial AGDIA Inc. (Indiana,

Estados Unidos), PaMMV y TMGMV, de la casa comercial LOEWE Biochemica GmbH (Muehlweg, Alemania), siguiendo las recomendaciones indicadas por el fabricante, tal y como se indica a continuación:

1. **Sensibilización de la placa de poliestireno:** se diluyó la gammaglobulina purificada (anticuerpo específico) para cada virus en una solución amortiguadora (buffer de cobertura), en un volumen suficiente para el número de muestras a analizar. Se colocó 100 µl de la dilución en cada pocillo de la placa, en base al formato de distribución de las muestras, controles positivos, negativos y blanco, con sus respectivas repeticiones. No se utilizaron los pocillos de los extremos de la placa, ya que estos pueden desarrollar reacciones no específicas (Salazar, 1979). Las placas se incubaron el tiempo recomendado por el fabricante.
2. **Lavado de la placa con tampón fosfato salino Tween-20 (PBST) 1X:** se procedió a lavar las placas manualmente con PSBT 1X, utilizando una piseta. El lavado se repitió las veces que indicaba el protocolo específico para cada virus, golpeando suavemente la placa sobre papel toalla al final de los lavados, para asegurar que los pocillos quedaran bien secos.
3. **Pesado y macerado de las muestras:** las muestras se pesaron en una balanza analítica (Fig. 7A), según la cantidad indicada en el protocolo para cada virus. Seguidamente, se maceraron con la ayuda de un homogenizador semiautomático HOMEX 6 BIOREBA AG (Reinach, Suiza) (Fig. 7B). Se colocó 100 µl de cada muestra homogenizada en cada pocillo de la placa (Fig. 7C), con sus repeticiones. Se agregó 100 µl de control negativo y positivo en los pocillos correspondientes, que fueron proporcionados por el fabricante, así como también se añadió tampón de extracción como blanco, con sus repeticiones. Los controles positivos y negativos fueron debidamente resuspendidos antes de utilizarlos, tal y como lo recomienda el fabricante. Las placas se incubaron por el tiempo recomendado por el distribuidor.
4. **Lavado de la placa:** se realizó el lavado con PBST 1X de forma manual con una piseta, el número de veces indicadas por el fabricante.

5. **Adición del conjugado enzimático:** después de diluido el conjugado enzimático en tampón general, se colocaron 100 μ l de esta solución en cada pocillo, con sus repeticiones, y se procedió a incubar siguiendo las indicaciones del fabricante.
6. **Lavado de la placa:** se repitió el paso de lavado de las placas las veces indicadas por el fabricante.
7. **Sustrato de revelado:** se agregó 100 μ l del sustrato *p*-nitrofenilfosfato (PNP) en cada pocillo y se incubó la placa durante 60 minutos, protegida de la luz directa o intensa.
8. **Lectura de la placa:** se realizó en un lector de placas de ELISA FLx800 Fluorescence Reader BIO-TEK (Fig. 7D), (Winooski, Estados Unidos), calibrado a una longitud de onda de 405 nm para la enzima fosfatasa alcalina. Las muestras se consideraron positivas cuando los valores de absorbancia de ambas repeticiones fueron al menos el doble del valor de absorbancia de ambas repeticiones del control negativo.

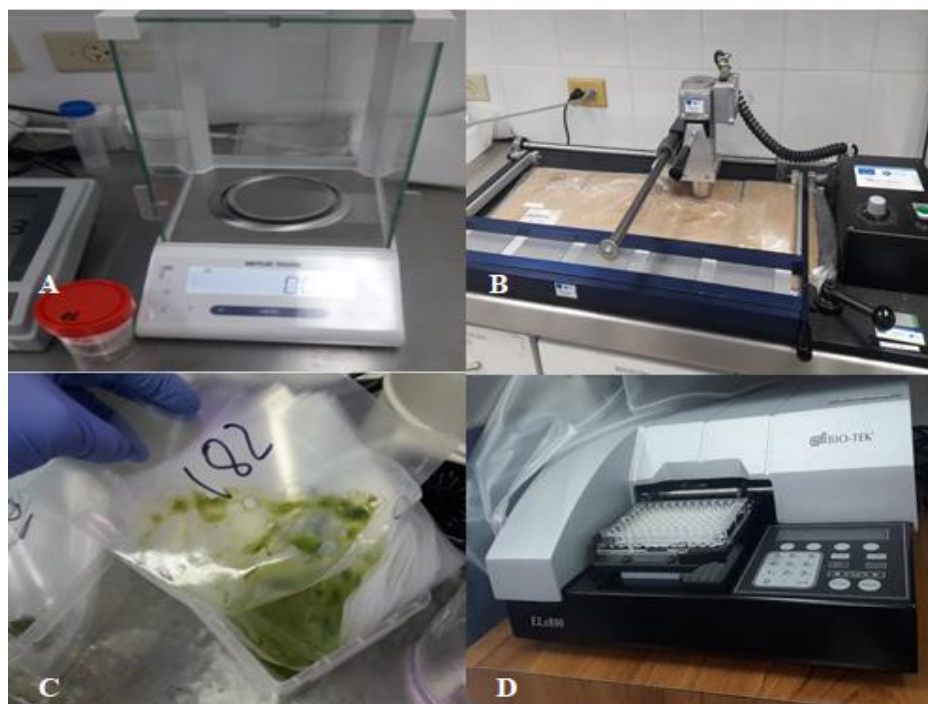


Figura 7. Balanza analítica (A), homogenizador semiautomático (B), muestra macerada (C) y lector de placas de ELISA (D).

4. RESULTADOS

4.1 INCIDENCIA DE VIRUS EN MUESTRAS Y PARCELAS

En este estudio se detectaron por DAS-ELISA ocho virus (61.5% del total de virus analizados) (Tabla 3A). CMV fue detectado en todas las provincias (Chiriquí, Los Santos, Herrera y Panamá) de Panamá donde se realizó este trabajo. Este virus se encontró en 41 muestras (19.2% del total de muestras analizadas) procedentes de 16 parcelas (50% del total de parcelas visitadas) (Tabla 3B). El segundo y tercer virus en orden de importancia fueron PMMoV, detectado en Chiriquí, Los Santos, Herrera, y PVX, detectado en Los Santos y Herrera, que presentaron incidencias de 6.5% y 4.7%, respectivamente, del total de muestras analizadas, y 25.0% y 18.8%, respectivamente, del total de parcelas estudiadas. TMV y PVY presentaron incidencias de 3.7% y 3.3% del total de muestras analizadas, y ambos mostraron incidencias de 12.5% del total de parcelas prospectadas. Por su parte, TMGMV y TEV mostraron incidencia de 1.4% del total de muestras analizadas, encontrándose estos virus en 6.3% de las parcelas visitadas. Finalmente, ToMV mostró la menor incidencia (0.5% del total de muestra analizadas), encontrándose solamente en el 3.1% del total de las parcelas visitadas. Adicionalmente, TEV fue detectado solamente en la provincia de Los Santos y ToMV en la provincia de Chiriquí (Tabla 3).

En la provincia de Los Santos, destacaron las parcelas N° 1 y 2, ya que las mismas presentaron cinco y cuatro de los virus analizados en este estudio, respectivamente (Tabla 4). En la provincia de Panamá (parcela N° 9) y en la provincia de Herrera (parcelas N° 12 y 16), se determinó la presencia de tres virus del total de agentes virales analizados en este trabajo (Tabla 3, Tabla 4), mientras que en la provincia de Chiriquí, en la parcela N° 21, se detectaron cuatro del total de virus analizados en esta investigación (Tabla. 4)

Tabla 3. Incidencia de virus en muestras (A) y parcelas prospectadas (B), y probabilidad de la prueba de χ^2 para la igualdad de proporciones entre provincias de Panamá.

	Chiriquí	Los Santos	Herrera	Panamá	Total	Probabilidad χ^2
(A)						
Número de muestras	108	61	25	20	214	
Infecciones de virus (%)						
CMV	5.6	29.5	48.0	25.0	19.2	< 0.0001
PMMoV	2.8	8.2	24.0	0.0	6.5	0.001
PVX	0.0	13.1	0.0	15.0	4.7	0.001
TMV	2.8	0.0	20.0	0.0	3.7	< 0.0001
PVY	0.0	8.2	0.0	10.0	3.3	0.007
TMGMV	1.9	1.6	0.0	0.0	1.4	0.805
TEV	0.0	4.9	0.0	0.0	1.4	0.054
ToMV	0.9	0.0	0.0	0.0	0.5	0.805
(B)						
Número de parcelas	16	8	5	3	32	
Infecciones de virus (%)						
CMV	37.5	50.0	60.0	100.0	50.0	0.388
PMMoV	12.5	37.5	60.0	0.0	25.0	0.078
PVX	0.0	50.0	0.0	66.7	18.8	0.013
TMV	6.3	0.0	60.0	0.0	12.5	0.001
PVY	0.0	25.0	0.0	66.7	12.5	0.015
TMGMV	12.5	12.5	0.0	0.0	6.3	0.576
TEV	0.0	25.0	0.0	0.0	6.3	0.167
ToMV	6.3	0.0	0.0	0.0	3.1	0.805

Tabla 4. Incidencia de virus detectados en las parcelas prospectadas.

Provincia	Nº de parcela	Nº de muestras	CMV	PMMoV	PVX	TMV	PVY	TMGMV	TEV	ToMV
Los Santos	1	11	+ (90.9%)	+ (18.2%)	+ (45.4%)	-	+ (27.3%)	-	+ (18.2%)	-
Los Santos	2	5	+ (40.0%)	+ (20.0%)	+ (20.0%)	-	-	-	+ (20.0%)	-
Los Santos	3	5	+ (60.0%)	-	+ (20.0%)	-	+ (40.0%)	-	-	-
Los Santos	4	10	+ (30.0%)	-	+ (10.0%)	-	-	-	-	-
Los Santos	6	5	-	+ (40.0%)	-	-	-	+ (20.0%)	-	-
Panamá	9	10	+ (30.0%)	-	+ (20.0%)	-	+ (10.0%)	-	-	-
Panamá	10	5	+ (20.0%)	-	-	-	+ (20.0%)	-	-	-
Panamá	11	5	+ (20.0%)	-	+ (20.0%)	-	-	-	-	-
Herrera	12	5	+ (60.0%)	+ (80.0%)	-	+ (60.0%)	-	-	-	-
Herrera	13	5	-	+ (20.0%)	-	+ (20.0%)	-	-	-	-
Herrera	14	5	+ (100%)	-	-	-	-	-	-	-
Herrera	16	5	+ (80.0%)	+ (20.0%)	-	+ (20.0%)	-	-	-	-
Chiriquí	17	10	+ (10.0%)	-	-	-	-	-	-	-
Chiriquí	19	10	+ (10.0%)	-	-	-	-	-	-	-
Chiriquí	20	10	+ (10.0%)	-	-	-	-	-	-	-
Chiriquí	21	5	-	+ (40.0%)	-	+ (60.0%)	-	+ (20.0%)	-	+ (20.0%)
Chiriquí	22	10	+ (10.0%)	-	-	-	-	-	-	-
Chiriquí	24	5	+ (10.0%)	-	-	-	-	-	-	-
Chiriquí	27	10	+ (10.0%)	-	-	-	-	-	-	-
Chiriquí	30	5	-	+ (20.0%)	-	-	-	+ (20.0%)	-	-

4.2 INFECCIONES SIMPLES Y MIXTAS

Se detectaron infecciones simples en 28 muestras (13.1% del total de muestras analizadas), mientras que las infecciones mixtas se presentaron en 24 muestras (11.2% del total muestras analizadas) (Tabla 5). Las muestras recolectadas en las parcelas donde se utilizó semilla seleccionada directamente por el productor, presentaron mayores porcentajes de incidencia, tanto en infecciones simples como en mixtas, en comparación con las muestras procedentes de parcelas establecidas con semilla comercial (Tabla 5).

En las muestras analizadas se encontró CMV, PMMoV y PVX en infecciones simples y un total de 6 combinaciones de virus dobles, 3 triples, 2 cuádruples y 1 quintuple (Tabla 5).

Las infecciones mixtas más comunes fueron las infecciones dobles (6.5% de las muestras), seguidas de las infecciones triples, cuádruples y quintuples (2.3%, 0.9% y 0.5% de las muestras, respectivamente).

CMV presentó la mayor incidencia en infecciones simples, tanto en semilla del productor (14.6%) como en semilla comercial (8.5%). De igual forma, este virus también se detectó en infecciones mixtas, en un rango de 0.9% (semilla comercial) a 5.2% (semilla del productor) (Tabla 5).

En las provincias de Los Santos, Chiriquí, Herrera y Panamá se detectaron seis, cinco, tres y tres especies virales, respectivamente. La provincia de Herrera presentó los porcentajes más altos de incidencia (60% del total de muestras colectadas), seguido de la provincia de los Santos, Panamá y Chiriquí, con porcentajes de 35%, 34% y 9% del total de muestras colectadas, respectivamente. CMV y PMMoV presentaron la mayor incidencia y distribución, encontrándose en cuatro y tres provincias en este estudio respectivamente, mientras que el resto de virus detectados solo estuvieron presentes en una o dos provincia y en menor incidencia. Considerando las muestras positivas por provincia, las infecciones simples resultaron superiores en las provincias de Panamá,

Herrera y Chiriquí, en comparación a las infecciones mixtas, las cuales presentaron mayor incidencia en la provincia de Los Santos.

Tabla 5. Infecciones simples y mixtas de virus, detectados en muestras recolectadas en parcelas establecidas con semilla del productor y comercial, en cuatro provincias de Panamá (Chiriquí, Los Santos, Herrera y Panamá).

Virus detectados	Infecciones detectadas		
	Semilla del productor (%); n = 96	Semilla comercial (%); n = 118	Total de muestras (%); n = 214
<i>Infecciones simples</i>			
CMV	14.6	8.5	11.2
PMMoV	1.0	0.9	0.9
PVX	2.1	0.0	0.9
Total	17.7	9.3	13.1
<i>Infecciones dobles</i>			
ToMV + TMV	0.0	0.9	0.5
TMV + PMMoV	0.0	0.9	0.5
TMGMV + PMMoV	2.1	0.9	1.4
CMV + PVX	5.2	0.9	2.8
CMV + PVY	4.2	0.0	1.9
PVX + TEV	1.0	0.0	0.5
Total	12.5	3.4	7.5
<i>Infecciones triples</i>			
CMV + PVX + PVY	1.0	0.0	0.5
CMV + TEV + PMMoV	1.0	0.0	0.5
CMV + TMV + PMMoV	3.1	0.0	1.4
Total	5.2	0.0	2.3
<i>Infecciones cuádruples</i>			
CMV + PVX + PVY + PMMoV	1.0	0.0	0.5
CMV + TMV + TMGMV + PMMoV	0.0	0.9	0.5
Total	1.0	0.9	0.9
<i>Infecciones quintuples</i>			
CMV + PVY + PVX + TEV + PMMoV	1.0	0.0	0.5
Total	1.0	0.0	0.5

Las muestras se consideraron positivas cuando los valores de absorbancia de ambas repeticiones fueron al menos el doble del valor de absorbancia de ambas repeticiones del control negativo. Basado en este criterio, ToMV presentó la mayor concentración en la única muestra donde fue detectado en este estudio, seguido de PMMoV y CMV (Tabla 6).

Tabla 6. Absorbancias de los resultados obtenidos mediante ELISA, para cada virus detectado.

Virus	Promedios de los resultados obtenidos mediante ELISA (OD 405 nm)		
	Controles positivos ^a	Controles negativos ^a	Muestras positivas ^b
CMV	0.656	0.100	0.210 – 1.552
PMMoV	1.541	0.104	0.392 – 2.690
PVX	2.368	0.099	0.211 – 0.251
TMV	2.078	0.101	0.224 – 0.597
PVY	1.683	0.099	0.347 – 0.460
TMGMV	1.317	0.093	0.204 – 0.260
TEV	0.612	0.074	0.208 – 0.244
ToMV	1.536	0.103	1.275

^aPromedio de 16 repeticiones.

^bRangos obtenidos de los promedios de todas las muestras positivas para cada virus detectado.

4.3 SINTOMATOLOGÍA EN EL CULTIVO DE PIMENTÓN ASOCIADA A INFECCIONES VIRALES

La presencia de CMV en infecciones simples en diversos cultivares de pimentón, estuvo asociada a síntomas de reducción de tamaño de las plantas, hojas ligeramente filiformes y mosaicos suaves (Fig. 8A, B). También, se observó deformación y manchas en frutos a modo de quemaduras (Fig. 8C). En la infección simple por PMMoV, se observaron síntomas de bandeo de venas y mosaicos ligeros en hojas (Fig. 9A), mientras que en el caso de PVX se observaron encrespamiento, clorosis y manchas necróticas en hojas (Fig. 9B).



Figura 8. Síntomas asociados a CMV en pimentón: reducción de tamaño de la planta (A), mosaicos suaves en hojas (B), deformación y manchas en frutos (C).



Figura 9. Síntomas de bandeo de venas y mosaico suave en hojas en infección por PMMoV (A), y síntomas de clorosis y manchas necróticas en hojas en infección por PVX (B).

En el caso de infecciones dobles, se observó el síntoma de encrespamiento de hojas asociado a ToMV+TMV (Fig. 10A), mosaico suave asociado a TMV+PMMoV (Fig. 10B) y reducción de tamaño de frutos y planta asociados a TMGMV+PMMoV (Fig. 11). Las infecciones por CMV+PVX y CMV+PVY presentaron síntomas muy similares de enrollamiento de hojas, bandeos de venas y enanismo de la planta (Fig.12).

En el caso de la infección por CMV+TEV, la misma presentó síntomas de distorsión de hojas, observándose más angostas de lo normal y, en su mayoría, presentaron

enrollamiento del ápice, además de manchas amarillas sin patrón definido, de forma generalizada en toda la planta (Fig. 13).



Figura 10. Enrollamiento hacia arriba de hojas infectadas por ToMV+TMV (A), bandeado de venas y burbujas en infección por TMV+PMMoV (B).



Figura 11. Reducción de tamaño de frutos y de planta infectada por TMGMV+PMMoV.



Figura 12. Enrollamiento de hojas causado por CMV+PVX (A) y bandeo de venas causado por CMV+PVY (B).



Figura 13. Síntoma de distorsión de hojas causado por CMV+TEV.

En algunas infecciones triples se observó un aumento en la severidad de los síntomas, en comparación con las infecciones simples y dobles descritas anteriormente. Por ejemplo, la infección causada por CMV+PVX+PVY produjo síntomas de mosaico en el borde de las hojas y pequeñas lesiones necróticas en hojas y tallo (Fig. 14). En plantas infectadas por CMV+TEV+PMMoV se observaron síntomas de distorsión de hojas y anillos cloróticos bien definidos (Fig. 15), mientras que la infección causada por CMV+TMV+PMMoV presentó mosaico suave de color verde-amarillo en hojas (Fig. 16A), encrespamiento generalizado en toda la planta y deformación de frutos (Fig. 16B).



Figura 14. Mosaico y lesiones necróticas en hojas producidos por CMV+PVX+PVY.



Figura 15. Distorsión y anillos cloróticos en hojas causados por CMV+TEV+PMMoV.



Figura 16. Mosaico verde-amarillo en hojas (A) y deformación de frutos infectados por CMV+TMV+PMMoV (B).

En plantas infectadas con cuatro virus (infecciones cuádruples), se observaron manchas necróticas en frutos, mosaico y venas amarillas en hojas en plantas infectadas con CMV+PVX+PVY+PMMoV (Fig. 17). En el caso de otra infección cuádruple, en este caso, CMV+TMV+TMGMV+PMMoV, la misma produjo mosaico y burbujas, principalmente en hojas nuevas (Fig. 18), siendo estos síntomas similares a los observados en la infección quántuple CMV+PVY+PVX+TEV+PMMoV (Fig. 19).



Figura 17. Deformación y manchas necróticas en frutos (A) y venas amarillas en hojas infectadas por CMV+PVX+PVY+PMMoV (B).



Figura 18. Mosaicos y pústulas en hojas infectadas por CMV+TMV+TMGMV+PMMoV.



Figura 19. Mosaico verde-amarillo, burbujas y rizado en hojas infectadas por CMV+PVY+PVX+TEV+PMMoV.

5. DISCUSIÓN

En esta investigación se detectaron mediante la técnica serológica DAS-ELISA, ocho virus asociados al cultivo de pimentón en las principales regiones productoras de esta hortaliza en Panamá. En las cuatro provincias (Chiriquí, Los Santos, Herrera y Panamá) estudiadas, el 55% de las muestras resultaron positivas a un solo virus, mientras que el 45% presentaron infecciones mixtas. En una investigación similar realizada por González-Franco *et al.* (2014), estos autores reportaron 44% y 78% de infecciones mixtas en la zona centro-sur y norte, respectivamente, en el estado de Chihuahua, México. Los datos obtenidos en la zona centro-sur fueron similares a nuestro estudio, mientras que la zona norte presentó diferencias significativas en comparación a nuestro estudio, ya que en esta zona se detectaron nueve especies virales.

En general, en las prospecciones realizadas a nivel nacional en Panamá, CMV presentó la mayor incidencia, como se indicó anteriormente, lo que podría estar relacionado a su eficiente transmisión de forma no persistente por más de 80 especies de áfidos, siendo *Myzus persicae* y *Aphis gossypii* los vectores más eficientes (Zitter y Murphy, 2009), así como su transmisión mecánica y por semilla, reportadas por Astier *et al.* (2007) y Ali y Kobayashi (2010), en adición a su extenso rango de hospedantes, ya que este virus puede afectar a más de 775 especies, pertenecientes a 365 géneros de 85 familias monocotiledóneas y dicotiledóneas (De Blas *et al.*, 1993; Hull, 2002; Apablaza *et al.*, 2003). Estos resultados coinciden con los reportados por Sepúlveda *et al.* (2005), que indican que CMV fue el virus de mayor frecuencia en las prospecciones realizadas en el cultivo de pimentón en México. De igual forma, Moury y Verdin (2012) indican que la sinergia de CMV con otros virus podría aumentar la acumulación de este virus, así como la intensidad de los síntomas en las plantas infectadas.

En la provincia de Chiriquí se detectaron cinco especies virales, pero fue la provincia que presentó la menor incidencia de virus (9%), lo que podría estar relacionado con el manejo del cultivo y el tipo de semilla, ya que todos los productores visitados en este estudio utilizan semilla comercial. Los virus detectados en esta provincia fueron CMV, PMMoV,

TMV, TMGMV y ToMV, que se caracterizan desde el punto de vista epidemiológico por su transmisión mecánica y por semilla (Font y Jordá, 2001). Estos autores indican también que los virus pertenecientes al género *Tobamovirus* se detectan con mayor frecuencia en casas de cultivo, siendo favorecida su transmisión por las labores culturales, la densidad de las plantas y, sobre todo, su capacidad de sobrevivir en restos vegetales, coincidiendo con lo reportado por Gülser *et al.* (2008) y Candemir *et al.* (2012).

El PMMoV ha generado grandes pérdidas económicas donde se ha reportado su presencia, tanto en producción de pimentón a campo abierto, pero principalmente en casa de cultivo (Alonso *et al.*, 1991; Negrete-Fernández *et al.*, 2014). En el presente estudio, PMMoV se detectó en muestras de pimentón procedentes de las provincias de Chiriquí, Los Santos y Herrera, siendo reportado previamente por Herrera-Vásquez *et al.* (2008) en las provincias de Coclé, Herrera y Veraguas, lo que indica que este virus está presente en la mayoría de las provincias donde se cultiva pimentón y su distribución podría estar asociada al uso de semilla de pimentón infectada, ya que la misma está reportada como la principal vía de dispersión de este virus (Genda *et al.*, 2005).

Los Santos y Herrera pertenecen al llamado Arco Seco de Panamá, que se caracteriza por presentar problemas de sequías recurrentes y temperaturas promedios anuales de 27.8 °C (ETESA, 2018), condiciones ambientales que favorecen el incremento de las poblaciones de áfidos, que transmiten de forma no persistentes varias especies de virus, entre estas, CMV, PVY y TEV (Moreno-Lozano, 2005). En el presente estudio, estos virus se detectaron en la provincia de Los Santos, por lo tanto, resulta muy importante implementar acciones preventivas de manejo integrado, como el uso de barreras vivas, eliminación de residuos de cosecha, control de malezas hospedantes y monitoreo de las poblaciones de insectos vectores de estos virus, así como también capacitar a los productores involucrados en la actividad comercial. Adicionalmente, Agrios (2005) reporta que la incidencia de las enfermedades virales varía de un año a otro, lo que depende de las condiciones climáticas, manejo del cultivo y el control químico, biológico y cultural de sus insectos vectores, así como el control de malezas hospedantes.

Las fuentes de inóculo de virus transmitidos por vectores a cultivos pueden ser las plantas infectadas del mismo cultivo o de un cultivo relacionado (de la misma familia botánica o de otra diferente), las malezas infectadas por virus y los vectores portadores de virus que se mantienen en los alrededores de las parcelas en sus plantas hospedantes. La combinación de estas fuentes de inóculo a través del tiempo es la condición perfecta para mantener y aumentar las afectaciones por virus en los campos de cultivo, en especial, vectores como moscas blancas y thrips, ya que estos permanecen infectados de por vida. Adicionalmente, la progenie de estos vectores estará expuesta a contagiarse en esas malezas, evitando así que el ciclo de la enfermedad finalice (Arguello *et al.*, 2007). Por lo tanto, cultivar rubros como pimentón y otras hortalizas, tienden a hacerse cada vez más difícil, riesgo y costoso, debido a que en la mayoría de los casos se pretende resolver con plaguicidas lo que se debe resolver con manejo integrado.

TMV y ToMV constituyen dos importantes virus transmitidos por semilla en pimentón (Sutic *et al.*, 1999; Ryu *et al.*, 2009). En el presente estudio, ToMV se detectó en una sola muestra, encontrándose asociado con TMV, éste último detectado también en infecciones simples, coincidiendo en ambos aspectos con los trabajos realizados por Kumar y Prakash (2016) en India. En la provincia de Chiriquí, estos virus se detectaron solamente en la localidad de Cordillera Centro, en cultivos de pimentón de la variedad Nathalie, mientras que en la provincia de Los Santos, TMV se detectó en tres localidades (El Ciruelo, Las Cabras y Los Grullos) en cultivares locales de pimentón (cacho de chivo y tres esquinas). Según la literatura consultada, este constituye el primer reporte de estos virus en el cultivo de pimentón en Panamá.

La mayor superficie del cultivo de pimentón en el país corresponde a pequeños y medianos productores, que normalmente optan por utilizar e intercambiar semilla de sus propias parcelas, situación que se comprobó en este estudio, ya que el 40% de las parcelas prospectadas, fueron establecidas con semillas del productor, práctica que incrementa la incidencia de virus en los próximos ciclos de cultivo, incluso, permite la introducción de agentes virales en nuevas áreas de producción. Esta situación también ha ocasionado un desconocimiento en cuanto a la genética del material que se cultiva, siendo

necesario realizar nuevas investigaciones, dirigidas a la evaluación de cultivares con resistencia o tolerancia a virus, considerada una de las acciones preventivas mayormente eficientes contra las infecciones virales en pimentón (Arguello *et al.*, 2007; Rodríguez-Lanez y Carbonell-Ríos, 2012).

En el presente estudio, los virus AMV, BBWV, TSWV, PaMMV y PepMoV no se detectaron en el cultivo de pimentón. No obstante, AMV presentó una alta incidencia en el cultivo de pimentón en México (González-Franco *et al.*, 2014) y, además, se detectó su presencia en el cultivo de papa en Panamá, específicamente en Cerro Punta, en la provincia de Chiriquí (Ing. Edgardo Acuña, Jefe del Departamento de Vigilancia Fitosanitaria, DNSV, datos no publicados). En base a la literatura consultada, a excepción del AMV, no existen reportes que indiquen la presencia en Panamá del resto de virus indicados anteriormente en este párrafo. Por lo tanto, esta investigación constituye un respaldo técnico para mantener estos virus dentro de la categoría de plaga cuarentenaria, de cara a continuar con las medidas de mitigación de riesgo, para productos de origen vegetal, con capacidad de ser infectados por estos patógenos, cuya principal vía de introducción al país podría darse a través de la semilla que se importa en Panamá.

Un total de 162 muestras de pimentón que mostraban síntomas similares a los causados por virus, las cuales se colectaron en diferentes localidades de las provincias citadas anteriormente, resultaron negativas a los virus analizados mediante DAS-ELISA en el presente estudio. Estas muestras podrían albergar la presencia de otros virus que también tienen la capacidad de infectar pimentón y que, además, están reportados en Panamá, como el virus del torrado del tomate (ToTV; género *Torradovirus*, familia *Secoviridae*) (Herrera-Vásquez *et al.*, 2009), virus del enrollamiento de la hoja de tomate de Sinaloa (ToLCSiV; género *Begomovirus*, familia *Begomoviridae*) (Herrera-Vásquez *et al.*, 2015), o el virus S de la papa (PVS; género *Carlavirus*, familia *Betaflexiviridae*) (DNSV, 2016, datos no publicados).

ToTV causa síntomas severos de mosaicos y retraso del crecimiento en pimentón, y es transmitido por las moscas blancas *Bemisia tabaci* Gennadius, *Trialeurodes vaporariorum*

Westwood y *Trialeurodes abutilonea* (Haldeman) (Hemiptera: Aleyrodidae) (Amari *et al.*, 2008), las dos primeras especies reportadas en Panamá (Zachrisson y Poveda, 1992). ToLCSiV está reportado como uno de los begomovirus más agresivos que afectan al cultivo de tomate y pimentón, y es transmitido por *B. tabaci* (Brown *et al.*, 1993). El PVS, generalmente causa síntomas suaves, pero puede presentar relaciones sinérgicas con otros virus como el PVX, que puede potencializar sus afectaciones y causar síntomas más severos (Nyalungwe *et al.*, 2012). Adicionalmente, se transmite de forma mecánica y de forma no persistente por áfidos, entre ellos *M. persicae* (Fernando-Gil *et al.*, 2013). La presencia o ausencia de estos virus en las muestras que resultaron negativas a los virus analizados en la presente investigación podría analizarse en un futuro estudio.

6. CONCLUSIONES

- CMV y PMMoV presentaron la mayor incidencia y distribución en el cultivo de pimentón en Panamá, estando presentes en cuatro y tres provincias, respectivamente, mientras que PVX, TMV, PVY, TMGMV, TEV, ToMV también fueron detectados, pero en menor incidencia.
- Mediante la prueba serológica DAS-ELISA se determinó por primera vez la presencia de TMV y ToMV asociados al cultivo de pimentón en Panamá, aunque ambos virus presentaron baja incidencia. No obstante, estos agentes virales se consideran muy importantes en este cultivo.
- AMV, BBWV, TSWV, PaMMV y PepMoV no fueron detectados en este estudio. A excepción de AMV, se desconoce la presencia de los otros virus en Panamá.
- Se detectaron infecciones simples y mixtas de hasta cinco virus en el cultivo de pimentón en Panamá.
- La incidencia de virosis fue mayor en muestras procedentes de parcelas donde se utilizan semillas del productor (37.5% de un total de 96 muestras), en comparación con las muestras procedentes de parcelas donde se utiliza semilla comercial (13.6% de un total de 118 muestras).
- Un total de 162 muestras de pimentón que mostraban síntomas similares a los causados por virus, resultaron negativas a los virus analizados en este estudio, las cuales podrían albergar la presencia de otros virus que también tienen la capacidad de infectar pimentón y que, además, están reportados en Panamá, siendo estos, ToTV, ToLCSiV y PVS.

7. RECOMENDACIONES

- Caracterizar mediante pruebas moleculares la presencia en Panamá de los virus detectados inicialmente mediante DAS-ELISA en el cultivo de pimentón, ya que los mismos podrían convertirse en patógenos importantes en éste y en otros cultivos de interés agrícola.
- Utilizar cultivares de pimentón, con resistencia o tolerancia a los principales virus que afectan a esta hortaliza en Panamá.
- Evaluar diferentes tratamientos de semilla como medida de manejo de enfermedades virales transmitidas por esta vía en pimentón, de cara a mejorar la condición fitosanitaria de este cultivo en Panamá.
- Revisar y fortalecer las medidas de mitigación establecidas para disminuir el riesgo de introducción de virus, a través de la semilla de pimentón que se importa en Panamá.
- Establecer un plan de capacitación a técnicos de las agencias del MIDA y a productores de pimentón en Panamá involucrados en el presente estudio, sobre prácticas culturales preventivas y de manejo, para reducir la incidencia de virus en este cultivo.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Elsevier Academic Press. San Diego, California, Estados Unidos, 922 p.
- Ali, A., Kobayashi, M. 2010. Seed transmission of *Cucumber mosaic virus* in pepper. *Journal of Virological Methods*, 163(2):234-237.
- Alonso, E., García-Luque, I., de la Cruz, A., Wicke, B., Ávila-Rincón, M. J., Serra, M. T., Castresana, C., Díaz-Ruiz, J. R. 1991. Nucleotide Sequence of the genomic RNA of *Pepper mild mottle virus*, a resistance-breaking tobamovirus in pepper. *Journal of General Virology*, 72(12):2875-2884.
- Amari, K., Gonzalez-Ibeas, D., Gómez, P., Sempere, R. N., Sanchez-Pina, M. A., Aranda, M. A., Diaz-Pendon, J. A., Navas-Castillo, J., Moriones, E., Blanca, J., Hernandez-Gallardo, M. D., Anastasio, G. 2008. *Tomato torrado virus* is Transmitted by *Bemisia tabaci* and Infects Pepper and Eggplant in Addition to Tomato. *Plant Disease*. 92(7):1139.
- Apablaza, G., Apablaza, J., Reyes, P., y Moya, E. 2003. Determinación de virosis e insectos vectores en malezas aledañas a cultivos hortícolas. *Ciencia e Investigación Agraria*, 30(3):175-186.
- Arguello, H., Lastres, L., Rueda, A. 2007. Manual de MIP en cucúrbitas. Programa de Manejo Integrado de Plagas en América Central (PROMIPAC-ZAMORANO-COSUDE). Zamorano, Honduras, 244 p.
- Astier, S., Albouy, J., Maury, Y., Robaglia, C., Lecoq, H. 2007. Principles of Plant Virology; Genome, Pathogenicity, Virus Ecology. Science Publishers. Enfield, Estados Unidos, 494 p.
- Bartolomé-García, T., Coletto-Martínez, J. M., Velázquez-Otero, R. 2015. Historia de las Plantas II: Historia del pimiento. España, 14 p.
- Brown, J. K., Idris, A. M., Fletcher, D. C. 1993. *Sinaloa tomato leaf curl virus*, a newly described geminivirus of tomato and pepper in west coastal Mexico. *Plant Disease*, 77(12):1262.
- Brunt A. A., Crabtree K., Dallwitz M. J., Gibbs AJ, Watson L., Zurcher E. J. (eds). 1996. Plant Virus Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. Version: 20th August 1996. URL: <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>
- Candemir, F., Kutluk-Yilmaz, N. D., Gülser, C. 2012. The effect of tobacco waste application on *Tobacco mosaic virus* (TMV) concentration in the soil. *Zemdirbyste-Agriculture*, 99(1):99-104.
- Chase, M. W., Hills. H. H. 1991. Silica gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. *Taxon*, 40(2):215-220.

- Clark, M. F., Adams, A. N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34(3):475-483.
- De Blas, C., Carazo, G., Castro, S., Romero, J. 1993. Estudios epidemiológicos sobre el virus del mosaico del pepino en diferentes cultivos y provincias españolas: identificación serológica de los subgrupos DTL y ToRS. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 19:345-353.
- ETESA, 2018. Empresa de Transmisión Eléctrica S.A. Departamento de Hidrometeorología. Disponible en: http://www.hidromet.com.pa/clima_historicos.php
- FAO, 2019. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Base de datos estadísticos (FAOSTAT) URL: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (16-enero-2019).
- Fernández, O. 1986. Enfermedades virales de algunos cultivos importantes en Panamá. En: Seminario Taller de Fitopatología. Panamá. Informe Técnico del CATIE No. 81:41-44.
- Fernando-Gil, J., Miguel-Cotes, J., Marín, M. 2013. Detección serológica y caracterización molecular de *Potato virus S* (PVS, *Carlavirus*) en cultivos de papa de Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 61(2):565-575.
- Florini, D. A., Zitter, T. A. 1987. *Cucumber mosaic virus* (CMV) in peppers (*C. annuum* L.) in New York and associated yield losses. *Phytopathology*, 77:652.
- Font, M. I., Jordá, C. 2001. Enfermedades virales del pimiento. Serie documentos, Grupo THM. España, 25 p.
- Genda, Y., Sato, K., Nunomura, O., Hirabayashi, T., Ohnishi, J., Tsuda, S. 2005. Immunolocalization of *Pepper mild mottle virus* in *Capsicum annuum* seeds. *Journal of General Plant Pathology*, 71:238-242.
- Gergerich, R. C., Dolja, V. 2006. Introduction to Plant Viruses, the Invisible Foe. The Plant Health Instructor. <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2006-0414-01>.
- González-Franco, A. C., Gil-Langarisia, E. M., Robles-Hernández, L., Nuñez-Barrios, A., Pérez-Leal, R., Hernández-Rodríguez, OA. 2014. Detecting of virus affecting chili pepper crop (*Capsicum annuum* L.) in Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 32:38-51.
- González-Garza, R. 2017. Evolution of Diagnostic Technics for Plant Viruses. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(3):591-610.
- Green, S. K., Kim, J. S. 1991. Characteristics and control of viruses infecting peppers, a literature review. *Technical Bulletin - Asian Vegetable Research and Development Center*, 18:60.
- Gülser, C., Yılmaz, K. N., Candemir, F. 2008. Accumulation of *Tobacco mosaic virus* (TMV) at different depths clay and loamy sand textural soils due to tobacco

- waste application. *Environmental Monitoring and Assessment*, 146(1-3):235-242.
- Hanssen, I. M., Lapidot, M., Thomma, B. P. H. J. 2010. Emerging Viral Diseases of Tomato Crops. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 23(5):539-548.
- Herrera-Vásquez, J. A., Alfaro-Fernández, A. Córdoba-Selles, M. C. Cebrián, M. C. Font, M. C., Jordá C. 2009. First report of *Tomato torrado virus* infecting Tomato in single and mixed infections with *Cucumber mosaic virus* in Panamá. *Plant Disease*, 93(2):198.
- Herrera-Vásquez, J. A., Córdoba-Selles, M. C., Cebrián, M. C., Alfaro-Fernández, A., Jordá, C. 2008. First report of *Pepper mild mottle virus* and *Tobacco mild green mosaic virus* infecting pepper in Panama. *New Disease Reports*, 18, 28.
- Herrera-Vásquez, J. A., Ortega, D., Romero, A. B., Davino, S., Mejía, L. J., Panno, S., Davino, M. 2015. First report of *Tomato leaf curl Sinaloa virus* infecting tomato crops in Panama. *New Disease Reports*, 31, 30.
- Hull, R. 2002. *Mathews' Plant Virology*. Fourth edition. Academic Press. San Diego, California, Estados Unidos, 1001 p.
- Hull, R. 2014. *Matthew's Plant Virology*. Elsevier, Academic Press. 1001 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-3848710.00023-6>.
- IBPGR, 1983. International Board for Plant Genetic Resources. Annual Report. Italy, 126 p.
- ICTV, 2019. International Committee on Taxonomy of Viruses. Disponible en: <https://talk.ictvonline.org/>
- Joo-Jin, J., Ho-Jong, J., Jaejong, N. 2014. A Review of Detection Methods for the Plant Viruses. *Research in Plant Disease*, 20:173-181.
- Kenyon, L., Kuman, S., Tsai, W. S. Hughes J. D. 2014. Virus Diseases of Peppers (*Capsicum* spp.) and Their Control. *Advances Virus Research*, 90:297-354.
- Kumar, S., Prakash, H. S. 2016. Detección de *Tobacco mosaic virus* and *Tomato mosaic virus* in pepper seeds by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 49(1-4):59-63.
- Landa-Cadena, M. 2012. Virus fitopatógenos de *Capsicum* spp. En la zona central de Veracruz. Universidad Veracruzana, 51 p.
- López-Riquelme, O. G. 2003. Chilli: La especie del nuevo mundo. *Ciencias Mexicanas*, 69, 66-75. URL: <https://www.academia.edu/6506562/>
- Martelli, G. P., Quacquarelli, A. 1983. The present status of tomato and pepper viruses. *Acta Horticulturae*, 127:39-64.
- McLeod, M. J., Sheldon, I. G., Hardy, W. E. 1982. Early evolution of chili peppers (*Capsicum*). *Economic Botany*, 36(4):361-368.
- MIDA. 2015. Ministerio de Desarrollo Agropecuario. Dirección Nacional de Agricultura. Panamá.

- MIDA. 2018. Ministerio de Desarrollo Agropecuario. Dirección Nacional de Agricultura. Panamá.
- Moreno-Lozano, A. 2005. Incidencia y dispersión de virus por pulgones en hortalizas de invierno y sus relaciones virus-vector. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid, 227 p.
- Moury, B., Verdin, E. 2012. Viruses of pepper crops in the Mediterranean basin: A Remarkable Stasis. *Advances in Virus Research*, 84:127-162.
- Negrete-Fernández, G., Valencia-Luna, J. B., Hernández-Deheza, M. G. 2014. Protocolo de diagnóstico de *Pepper mild mottle virus* (PMMoV) mediante la técnicas de ELISA y PCR. SENASICA. México, 17 p.
- Nyalungwe, E. P., Wilson, C. R., Coutts, B. A., Jones, R. A. C. 2012. Biological properties of *Potato virus X* in potato: Effects of mixed infection with *Potato virus S* and resistance phenotypes in cultivars from three continents. *Plant Diseases*, 96(1):43-54.
- Nuez, F., Ortega, R., García, J. 1996. El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Mundi-prensa. España, ISBN 10: 8471146096.
- Pérez-Moreno, L., Rico-Jaramillo, E., Sánchez-Pelé, J. R., Ascencio-Ibáñez, J. T., Díaz-Plaza, R., Rivera-Bustamante, R.F. 2004. Identificación de virus fitopatógenos en cultivos hortalizas de importancia económica en el estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22:187-197.
- Robles, L., González, A., Franco, E., Gill, M., Pérez, L., López, J. C. 2010. Virus fitopatógenos que afectan al cultivo de chile en México y análisis de las técnicas de detección. *Tecnociencia Chihuahua*, 4(2):72-86.
- Rodríguez-Lanez, Y., Carbonell-Ríos, J. A. 2012. Comportamiento del virus y de la papa en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Instituto de Investigaciones Hortalizas. Cuba, 20 p.
- Ryu J. G., Ko S. J., Lee Y. H., Kim M. K., Kim K. H., Kim H. T., Choi H. S. 2009. Incidence and distribution of virus diseases on paprika (*Capsicum annuum* var. *grossum*) in jeonnam province of Korea. *Journal of Plant Pathology*, 25(1):95-98.
- Salazar, L. F. 1979. Aplicación de la técnica serológica con conjugados enzimáticos (ELISA) para diagnosticar virus de la papa. *Fitopatología* 14:1-9.
- Salazar, L., Silva, C. 2004. Efectos farmacológicos de la capsaicina, el principio pungente del chile. *Biología Scripta*, 1(1):7-14.
- Sepúlveda, P., Larraín, P., Quiróz, C., Rebufel, P., Graña, F. 2005. Identificación e incidencias de virus en pimiento en la zona centro norte de Chile y su asociación con vectores. *Agricultura Técnica*, 65(3):235-245.
- Sutic, D. D., Ford, R. E., Tomic, M. T. 1999. Handbook of plant virus diseases. CRC Press., Florida, Estados Unidos, 553 p.

- Yoon, J. Y., Green, S. K., Tschanz, A. T., Tsou, S. C. S., Chang, L. C. 1989. Pepper Improvement for the Tropics, Problems and the AVRDC Approach. Asian Vegetable Research and Development Center, Tainan, 86-98.
- Zachrisson, B., Poveda, J. 1992. Las moscas blancas en Panamá. In Hilje, L; Arboleada, O. (eds). Las moscas blancas (Homoptera: *Aleyrodidae*) en América Central y el Caribe. CATIE. Costa Rica, 64-66.
- Zitter, T. A., Murphy, J. F. 2009. *Cucumber mosaic virus*. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2009-0518-01